

イネ属の葉におけるシュウ酸カルシウムの沈積とその意義に関する研究

著者	新発田 修治
号	231
発行年	1982
URL	http://hdl.handle.net/10097/16165

氏 名（本籍） し ば た しゅう じ
新 発 田 修 治

学 位 の 種 類 農 学 博 士

学 位 記 番 号 農 第 2 3 1 号

学位授与年月日 昭 和 5 8 年 2 月 1 0 日

学位授与の要件 学位規則第 5 条第 2 項該当

学位論文題目 イネ属の葉におけるシュウ酸カルシウム
の沈積とその意義に関する研究

論文審査委員（主 査）

教授 佐 藤 庚 教授 角田 重三郎

教授 大 平 幸 次

論文內容要旨

イネ科植物の葉身には無機結晶が存在しないと考えられていたが、著者は、多くのイネ科植物の葉にシュウ酸カルシウムの結晶（以下「結晶」と呼ぶ）が沈積することを見だし、その分布と形が植物分類学上の亜科または族の段階で異なることを予測し、その確認を行った。

今までも、結晶を代謝の老廃物とする消極的な見方と、生理的意義を積極的に認める見方がある。イネ属は、葉肉細胞にも多量に結晶を沈積するので、著者は結晶の沈積は葉の生理と関係が深いと推定し、その意義を明らかにしようとした。結晶の生理的意義については、①結晶は、シュウ酸が過剰のカルシウム (Ca) を中和する結果生ずるとみる考えと、逆に、②有害なシュウ酸を無毒化するために沈積するとみる考えがある。本論文においては、結晶の沈積過程の追跡と、種々の処理による結晶とシュウ酸の変動を調べることによって、水稻における結晶の沈積の意義を明らかにしようとした。

一方、シュウ酸含量の高い植物を家畜に大量に与えると、様々な生理害が起きるといわれている。最近では稲ワラを飼料とすることもあるので、このような実用的側面からも結晶の沈積過程を明らかにする意義があると考えた。

得られた結果

1. イネ科植物における結晶の分布および形と類縁性との関連

1) イネ科植物には、葉身と葉枕に多種類の結晶が沈積した(図 1, 資料)。結晶の分布と形から、イネ科植物は以下の 6 群に分類された。

A. 結晶は、葉身 (f 型) と葉枕 (a 型, b 型, c 型, d 型, e 型, f 型, h 型, l 型, m 型, q 型, r 型) に沈積: Oryzoidea 亜科。

B₁。結晶は、葉身（e型、k型、o型、p型）と葉枕（c型、e型、f型、g型、h型、j型、k型、l型、n型）に沈積：Panicoideae 亜科（Paniceae 族）。

B₂. 結晶は、葉身（e 型、k 型、o 型、p 型）に沈積するが、葉枕にはまれである：Panicoideae 亜科（Andropogoneae 族）。

C₁. 結晶は、葉枕にだけ沈積: g 型,
j 型, n 型— Eragrostoideae 亜科,

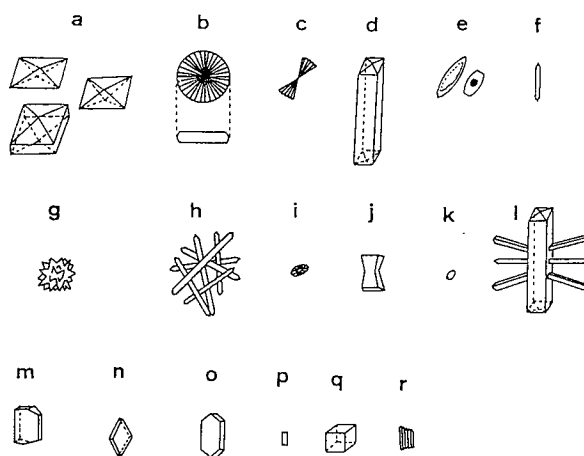


図 1. イネ科植物の葉に見いだされた
シュウ酸カルシウム結晶の種類.

a 型, d 型, f 型, g 型, h 型, i 型— Festucoideae 亜科 (Triticeae 族)。

C₂. 結晶は, まれに葉枕に沈積する: Festucoideae 亜科 (Festuceae 族, Aveneae 族)。

D. 結晶は, 全く沈積しない: Arundinoideae 亜科。

結晶の分布から, イネ亜科が祖先型に近い種であると考察した。

- 2) イネ属のほとんどの種の葉枕には, 多数かつ多種類の結晶が沈積した。種によって, それぞれの結晶型の出現割合が異なり, 4 群に分けられたが, この同一群内には, 時に遺伝的に遠縁とされるものも共存したので, 結晶による完全な分類は不可能であった。

2. 水稻の葉の結晶の沈積経過

- 1) X線回析, 低温灰化, 微小点X線分析, 組織化学から, 水稻の葉には, 含水量の異なる2種類の結晶が沈積することが確認された(図2)。

葉肉細胞には, 針状の一水塩が束状に沈積した(図3-1)。また葉枕には二水塩の八面体結晶が多数沈積した(図3-3), 鞘葉にも晶洞型の結晶が沈積した(図3-2)。

- 2) 葉身の葉肉細胞中の結晶束は, 葉身の抽出時に沈積しはじめ, 以後ageが進むにつれて急速に数を増して大きくなった。結晶は, 下位葉ほど数が多く, 大きかった(図4)。同一葉では, 先端部ほど結晶が大きく, 含有率も高かった。葉鞘は, 葉身より結晶が少なく含有率は低かった。結晶の出現時期は, 光合成作用が活発になる時期と対応しており, 両者の関連が指摘された。葉身の部位間で比較すると, 分化が早くageが進んだ部位でも, 必ずしも結晶の含有率が高くはなく, 細胞の老化にともなう老廃物

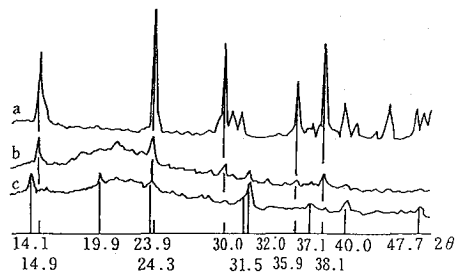


図2. 水稻の葉のシュウ酸カルシウム結晶のX線回析図。

a : $\text{Ca}(\text{COO})_2\text{H}_2\text{O}$ の純品. b : 葉身の結晶. c : 葉枕の結晶.

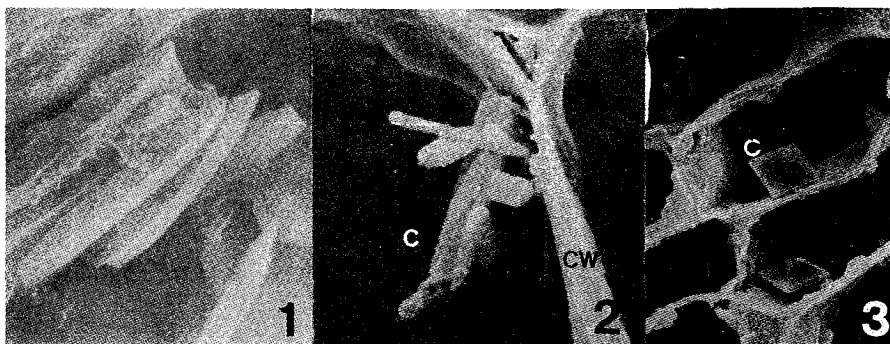


図3. 水稻の葉に含まれるシュウ酸カルシウム結晶。

1. 葉身葉肉細胞中の針状結晶(一水塩)。2. 鞘葉柔細胞中の晶洞形結晶。3. 葉枕柔細胞中の八面体結晶(二水塩)。C : シュウ酸カルシウム。CW : 細胞壁。

とは考え難かった（表1）。

3）以上の観察結果は、シュウ酸の分析とカルシウムの分画定量からも確かめられた。

4）葉枕の八面体結晶は、葉身の結晶束とは逆に下位葉ほど数が多く、大きかった。この結晶は、葉身の展開後一時期に急速に形成されたが、ageが進むにつれて変形し、数が減少した（図5）。葉枕の結晶は、結晶平衡石としての役割をもつと考えられた。

表1. 穂ばらみ期の水稲（品種ササニシキ）における葉位別部位別の葉肉組織の結晶束の数と大きさ（8月4日）。

葉位部位		先端部 ¹⁾		中央部 ¹⁾		基部 ¹⁾	
		結晶束数 ²⁾	体積(μm^3) ³⁾	結晶束数	体積(μm^3) ³⁾	結晶束数 ²⁾	体積(μm^3) ³⁾
止葉	葉身	2.4	0.30	2.7	0.17	1.8	0.02
	葉鞘	1.0	0.08	0.3	0.08	0.3	0.07
第2葉	葉身	3.1	0.49	3.2	0.18	2.3	0.06
	葉鞘	—	—	0.4	0.12	—	—
第3葉	葉身	3.2	0.69	2.7	0.48	2.7	0.15
	葉鞘	—	—	0.5	0.06	—	—
第4葉	葉身	2.4	2.67	2.2	1.90	2.1	1.12
第5葉	葉身	—	—	2.3	1.19	—	—

1) 先端部；先端から約5cmの部分。中央部；中央部分。基部；葉身ではカラーから約5cmの部分。葉鞘では葉枕から約5cmの部分。

2) 100 μm^3 あたりの結晶束数。

3) $(\text{結晶の幅}/2)^2 \times \text{結晶の長さ} \times 3.14$ 。

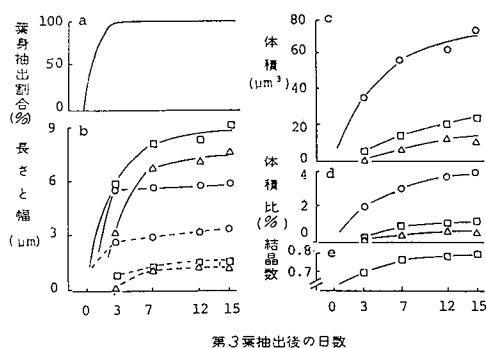


図4. 水稲（品種ササニシキ）の幼植物の第3葉葉身に含まれるシュウ酸カルシウム結晶の経時的変化。

○：先端部。□：中央部。△：基部。

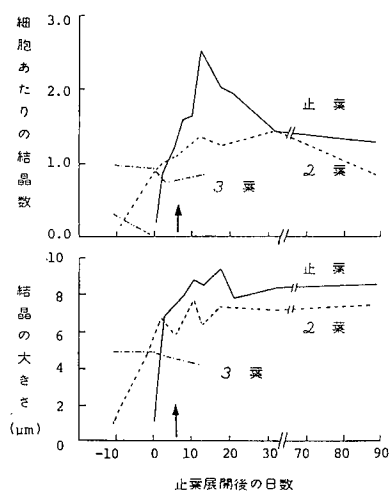


図5. ポット栽培した水稲（品種ササニシキ）の葉枕の結晶の経時的変化。矢印は出穂日。

3. 環境条件が結晶の沈積に与える影響

- 1) 水稻の葉の結晶は、培地のカルシウム濃度が高いほど多く、大きかった(表2)。培地のカルシウム濃度が高いと可溶性のカルシウム含有率が高まり、また、葉鞘の維管束周囲の柔細胞には、晶洞型の結晶が現れた。

表2. 培地のカルシウム濃度が水稻の葉のシュウ酸カルシウム結晶の沈積に及ぼす影響。

		0.5 ppm		30 ppm		200 ppm	
		結晶数 ¹⁾	大きさ(μm)	結晶数 ¹⁾	大きさ(μm)	結晶数 ¹⁾	大きさ(μm)
第7葉	葉身	+	< 2	++	3.0	++++	7.0
	葉鞘	+	< 2	++	2.5	+++	3.0
	葉枕	0.13	2.5	0.35	3.8	1.13	6.3
第6葉	葉身	+	< 2	++	3.0	+++	5.0
	葉鞘	+	< 2	++	2.5	+++	2.5
	葉枕	0.08	2.5	0.31	3.1	0.70	6.3
第5葉	葉身	+	< 2			++++	5.0
	葉鞘	+	< 2			++	2.5
	葉枕	0.05	2.5			0.50	4.5

1) 葉枕は細胞あたりの結晶数、+ 少数~++++ きわめて多い。
葉位は下位から数えた。

2) 葉肉細胞中の結晶束は、高温(昼/夜温・30℃/27℃)条件下では、中温(24℃/21℃)条件よりも結晶が大きくなり、低温(17℃/14℃)条件下では小さくなって数も減少した。また、結晶は、遮光処理によって小さくなり、数も減少した(図6)。葉緑素を欠くアルビノ個体は、正常個体に比べて結晶が小さくかつ少なかった。少肥条件下では、結晶は小さく、数もやや少なく、また、シュウ酸含有率も多肥に比べて低かった。水稻体内には可溶性シュウ酸が多く含まれているが、グリコール酸酸化酵素阻害剤によってシュウ酸含有率が減少した。シュウ酸含有率が低いときには、結晶も少なかった(図7)。

3) 低温、遮光、少肥条件下では光合成速度が低下するといわれているが、これらの条件下では結晶が少なくかつ小さかったので、シュウ酸は光合成作用によって生産されると

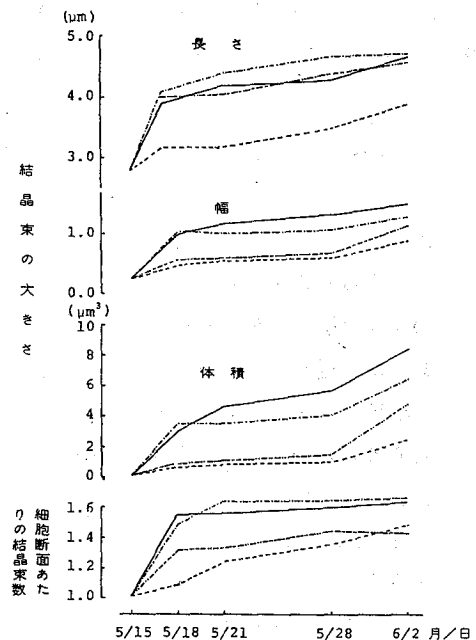


図6. 第6葉葉身中の結晶束の数と大きさに及ぼす温度と遮光の影響。

—: 30℃/27℃ (昼/夜温), ----: 24℃/21℃ (昼/夜温), - · - · - : 24℃/21℃ (昼/夜温)・遮光,: 17℃/14℃ (昼/夜温)。

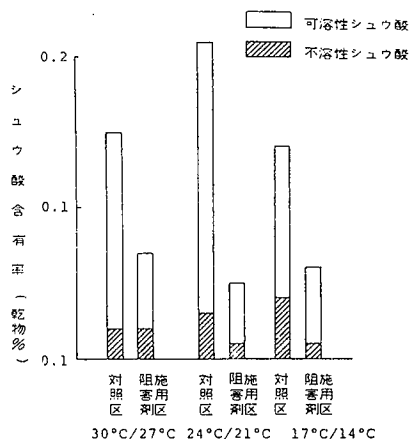


図7. グリコール酸酸化酵素阻害剤の添加および温度が水稻（品種ササニシキ）のシュウ酸含有率に及ぼす影響。

考えられた。

4. シュウ酸カルシウム結晶の沈積の意義

- 1) 培地に添加した 2 mM までのシュウ酸は、幼植物に吸収されるにもかかわらず、生育を害することなく、かえって促進した（図8）。しかし、5 mM 以上では著しく生育を阻害した。したがって、少量のシュウ酸は水稻に利用される可溶性もあるが、過剰害が大きいと考えられた。
- 2) 培地のカルシウムとカリウム濃度をかえて砂耕栽培し、シュウ酸含有率と無機元素含有率とを測定した。水稻には、可溶性のシュウ酸が多く含まれ、また、培地のカルシウム濃度が高いほど可溶性シュウ酸含有率が低下し、このため全シュウ酸含有率も低くなった。逆に、培地のカリウム濃度が高いと、シュウ酸含有率は高まった（図9）。

可溶性シュウ酸含有率とカリウム含有率との間には、正の相関関係（ $r = +$

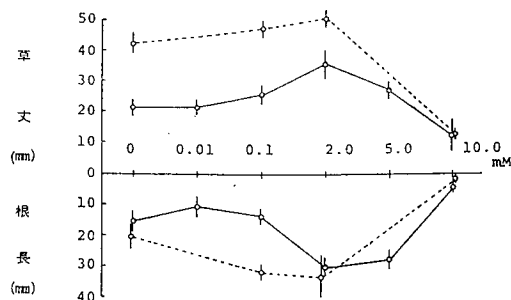


図8. 温度とシュウ酸濃度が水稻（品種ササニシキ）の草丈と根長に及ぼす影響。
—○—: 24°C/21°C（昼/夜温）,
---○---: 30°C/27°C（昼/夜温）。

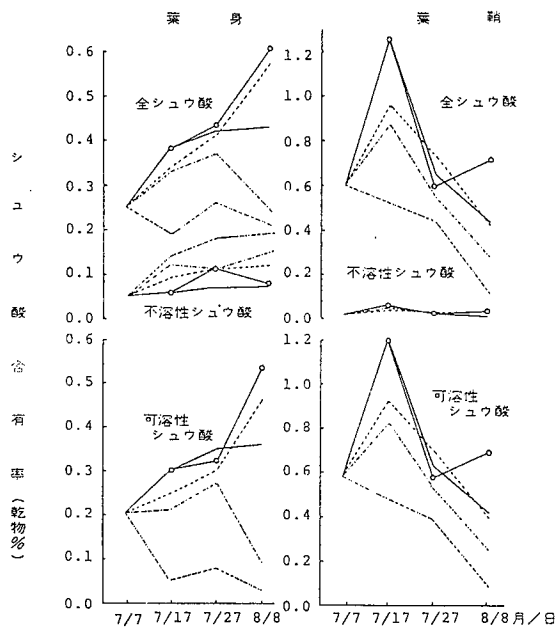


図9. 培地のカルシウムおよびカリウム濃度が水稻体内のシュウ酸含有率に及ぼす影響。

- : Ca 30 ppm. K₂O 30 ppm.
- : Ca 100 ppm. K₂O 30 ppm.
- : Ca 500 ppm. K₂O 30 ppm.
- : Ca 1000 ppm. K₂O 30 ppm.
- : Ca 30 ppm. K₂O 60 ppm.

0.794***) が認められた(表3)。カルシウム 500 ppm, 1000 ppm 区の下位葉のみかけ光合成速度は他区に比べて低く, 可溶性シュウ酸含有率も低下した。

- 3) 以上の結果から, シュウ酸は光合成作用によって生産されるが, 体内で遊離のシュウ酸の割合が高いと害作用を示すので, カリウムまたはカルシウムによって中和されて除害されていると考えた。シュウ酸カルシウムは可溶性カルシウムの多少によって影響され, 葉の age の若い時には, 光合成が活発でシュウ酸が多いわりには可溶性カルシウムが少ないためカリウムによって中和されているが, 老化につれて, 可溶性カルシウムが増し, シュウ酸カルシウムが徐々に沈積すると考えられた。葉身, 葉鞘に一度形成された結晶は, 再利用される可能性が小さいと考えられた。

表3. カルシウム及びカリウム濃度が異なる培地で生育した水稻体内のシュウ酸含有率とカルシウム (Ca), マグネシウム (Mg) およびカリウム (K) 含有率との相関関係。

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.
1. 可溶性 Ca	+1.000										
2. 不溶性 Ca	** +0.510	+1.000									
3. 可溶性 Mg	-0.045	-0.089	+1.000								
4. 不溶性 Mg	-0.088	-0.037	+0.250	+1.000							
5. K	-0.233	-0.289	+0.157	-0.097	+1.000						
6. 可溶性 Ca+Mg+K	-0.155	-0.280	+0.247	-0.074	+0.993	+1.000					
7. 不溶性 Ca+Mg+K	+0.169	+0.960	+0.140	+0.086	-0.112	-0.111	+1.000				
8. 全 Ca+Mg+K	-0.006	+0.026	+0.274	+0.014	+0.924	+0.945	+0.169	+1.000			
9. 可溶性シュウ酸	-0.350	-0.481	+0.215	+0.006	+0.794	+0.792	-0.245	+0.654	+1.000		
10. 不溶性シュウ酸	-0.403	+0.729	+0.039	+0.038	+0.324	-0.245	+0.476	-0.055	+0.440	+1.000	
11. 全シュウ酸	-0.350	-0.369	+0.237	+0.020	+0.788	+0.791	-0.169	+0.691	+0.985	-0.281	+1.000

** 1%で有意, *** 0.1%で有意。含有率は乾物 1 kgあたり mg 当量。

資料. イネ科植物の葉 (葉身と葉枕) のシュウ酸カルシウム結晶の分布.

No. 1

亜科	族	属	葉		身		葉		枕	
			種数	出現頻度 ¹⁾	結晶型 ²⁾	種数	出現頻度 ¹⁾	結晶型 ²⁾		
Oryzoideae	Oryzae	Oryza	8	+++	f, a	22	+++ ³⁾	a, b, c, d, e, f, h, l, m, q, r,		
		Leersia	1	++*	f	1	++	a, d, c, b		
	Zizanieae	Zizania	1	++	f	1	+	f		
Arundinoideae	Arundineae	Phragmites	1	-*		1	-			
Festucoideae	Stipaeae	Achnatherum	1	++	k					
		Bromus	1	-		2	+	g		
		Dactylis	1	-		1	-			
		Festuca	6	-		1	+	e, f		
		Lolium	2	-		2	-			
		Poa	1	-		3	-			
	Aveneae	Avena	1	-		1	-			
		Anthoxanthum	1	-*		1	-			
		Arratherum	1	-*		1	-			
		Holcus	1	-		1	-			

1) -: 全く含まない, +: 少ない, ++: 多め, +++: 非常に多い, *: 成体の葉身。2) 図 1 に示す結晶型の多い順。3) O. subulata と O. tisseranti はほとんど結晶を含まない。分類は Hoshikawa にならった。

亜科	族	属	葉		身		葉		枕	
			種数	出現頻度	結晶型	種数	出現頻度	結晶型		
Festicoideae	Aveneae	Phalaris	1	—		1	—			
		Alopecurus	1	—		3	—			
		Calamagrostis	1	—*						
		Phleum	1	—						
		Agrostis	1	—*		1	+		i, d	
	Triticeae	Triticum	1	—		1	+		g	
		Secale	1	—		1	+		d, h, a	
		Agropyron	3	+ ⁴⁾	a, o	1	+		g	
		Hordeum	1	—		1	+		g, f	
		Elymus	1	—*						
Eragrostoideae	Eragrosteae	Eragrostis	4	—		1	+		g	
		Elaeusine	3	—		1	++		j, n, g	
		Cynodon	1	—		1	+		g	
		Chloris	2	—		1	+		g	
	Zoysieae	Zoysia	1	—		1	+		g, n, j	
Panicoideae	Paniceae	Digitaria	2	++	o, k, p	1	+		g, k, c	

4) A. deserttrum だけに結晶が沈積。

亜科	族	属	葉			身			葉			枕	
			種数	出現頻度	結晶型	種数	出現頻度	結晶型	種数	出現頻度	結晶型		
Panicoideae	Paniceae	Paspalum	4	-				3	-				
		Panicum	10 ⁵⁾	+++	o, k, p		2	+	c, e, l, h				
		Eriochloa					1 ⁶⁾	++	g, d, c, j, n				
		Cenchrus	1	-									
		Setaria	4	+++	p, o, e		4	++	e, g, f, c, h				
		Pennisetum	1	+	p, e, k		1	+	f, c, d, e				
		Miscanthus	3	+	e, k, p		1	-					
		Saccharum	1	+ ⁷⁾ *	e		1	-					
		Arthraxon	1	-			1	+	e, k, f				
		Zea	1	-			1	-					
		Sorghum	3	++	o, k, e		1	-					
		Andropogon	1	-									
		Coix	1	+	k, e		1	-					
		属数および種数	85				71						

5) P. millioides は少ない。6) 静岡市近郊で採取。7) 東北大学農学部で株保存の材料。

審 査 結 果 の 要 旨

イネ科植物には真の結晶は存在しないといわれていたが、イネの葉枕には八面体の碳酸石灰結晶（以下結晶という）が存在することが知られていた。著者は葉枕のみならず葉身には更に多量に結晶が存することを発見し、ふつうの光顕、偏光顕微鏡、低温灰化法、X線解析法、走査型電顕などを駆使して結晶の性質を精査し、また化学分析も行って結晶のもつ生理的意義を追求した。

イネ科植物には葉身と葉枕、葉鞘に多様な形の結晶を沈積するが、イネ亜科が特に多量に含有し、結晶の面からイネ科の祖先種に近いと推定した。一方、イネ属は、ほとんどの種の葉枕に多数かつ多様な形の結晶を沈積し、その形、沈積様相からイネ属を4群に分けうることを、栽培種とその祖先種は同一群内に含まれたが、結晶によるイネ属の分類とこれまでの分類は必ずしも一致しなかった。

水稻の葉肉細胞には針状の一水塩、葉枕には二水塩の八面体結晶が沈積した。葉肉における一水塩は結晶束として存在することが多いが、葉身の抽出に伴って沈積し始め、ageが進むにつれ数と大きさを増加した。葉枕の結晶は下位の葉ほど量が多いが、ageが進むにつれ量が減少した。

環境と結晶沈積との関係を調べた結果、培地のCa濃度が高いほど、気温が高いほど数が増え大きさを増し、遮光や少肥条件で減少すること。また葉の抽出完了とともに最大となることなどから碳酸形成および碳酸石灰沈積は光合成作用と関係が深いと推定した。

培地のCa濃度、碳酸濃度が適当な範囲では水稻の生育が促進されたが、両者とも過剰になると生育を阻害した。結晶はこれらの害作用を相互に軽減する除害効果をもつと考えた。以上の他に、葉枕の正八面体結晶は平衡石としての役割をもつらしいことを示した。結晶はCaあるいは碳酸の一時的貯蔵の役割を果たす可能性は少ないことを推定した。

以上のように本業績は、イネ科植物のほとんど全部の葉に碳酸石灰の沈積があることを明らかにし、その分類学上の意義、生理学的意義を考察した独創性豊かなものであって、十分農学博士の学位に値すると判定した。